

<b>(51) Internationale Patentklassifikation <sup>6</sup> :</b> <b>B01J 13/04, A61K 9/16</b>	<b>A1</b>	<b>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 99/44735</b>  <b>(43) Internationales Veröffentlichungsdatum:</b> 10. September 1999 (10.09.99)
<b>(21) Internationales Aktenzeichen:</b> PCT/EP99/00162  <b>(22) Internationales Anmeldedatum:</b> 14. Januar 1999 (14.01.99)  <b>(30) Prioritätsdaten:</b> 198 09 965.7 7. März 1998 (07.03.98) DE  <b>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US):</b> INOTECH AG [CH/CH]; Kirchstrasse 1, CH-5605 Dottikon (CH).  <b>(72) Erfinder; und</b> <b>(75) Erfinder/Anmelder (nur für US):</b> PLÜSS-WENZINGER, Raphael [CH/CH]; Schuochterbödeli 44 A, CH-7220 Schiers (CH). WIDMER, Fritz [CH/CH]; Tennmoosstrasse 8, CH-8044 Gockhausen (CH). HEINZEN, Christoph [CH/CH]; CH-8092 Zürich (CH). BRANDENBERGER, Harry [CH/CH]; Morgenrainstrasse 25, CH-8620 Wetzikon (CH).  <b>(74) Anwälte:</b> HIEBSCH, Gerhard, F. usw.; Hiebsch Peege Behrmann, Heinrich-Weber-Platz 1, D-78224 Singen (DE).		<b>(81) Bestimmungsstaaten:</b> AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).  <b>Veröffentlicht</b> <i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i>

**(54) Title:** METHOD AND DEVICE FOR CAPSULATING MICROBIAL, PLANT AND ANIMAL CELLS OR BIOLOGICAL AND CHEMICAL SUBSTANCES

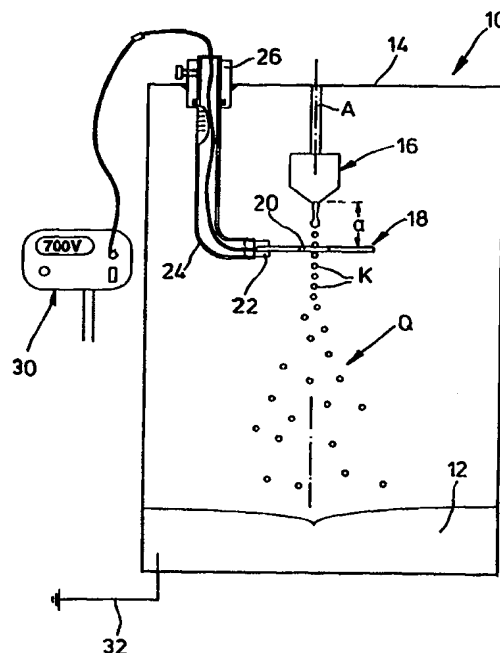
**(54) Bezeichnung:** VERFAHREN UND VORRICHTUNG ZUM VERKAPSELN VON MIKROBIELEEN, PFLANZLICHEN UND TIERISCHEN ZELLEN BZW. VON BIOLOGISCHEN UND CHEMISCHEN SUBSTANZEN

#### (57) Abstract

The invention relates to a method for capsulating microbial, plant and animal cells or biological and chemical substances, using a nozzle to obtain small, especially spherical particles by vibrating an immobilisation mixture. According to said method, the immobilisation mixture, especially a laminar fluid jet taking the form of an immobilisation mixture, is divided into equal parts by superimposition of an external vibration. In a device especially well suited to carry out this method a metallic counter-element (18) which is mounted downstream from the nozzle (16) at a distance (a) to, and on the outside of, the nozzle axis (A) is connected to a high-voltage source (30). The counter-element is to be embodied by a metal ring (18) through whose through hole (20) the nozzle axis (A) extends. The metal ring (18) is radially connected to an insulated support (22, 24).

#### (57) Zusammenfassung

Bei einem Verfahren zum Verkapseln von mikrobiellen, pflanzlichen und tierischen Zellen bzw. von biologischen und chemischen Substanzen durch eine Düse in kleine, i.w. kugelförmige Teilchen durch Vibration eines Immobilisierungsgemisches, wird dieses – und insbesondere ein laminarer Flüssigkeitsstrahl als Immobilisierungsgemisch – durch Überlagerung einer externen Schwingung in gleichgroße Fraktionen geteilt. Bei einer dafür besonders geeigneten Vorrichtung ist ein der Düse (16) in Abstand (a) und außerhalb der Düsenachse (A) nachgeordnetes metallisches Gegenelement (18) an eine Hochspannungsquelle (30) angeschlossen. Dieses Gegenelement soll als Metallring (18) ausgebildet sein, dessen Ringdurchbruch (20) von der Düsenachse (A) durchsetzt wird. Dieser Metallring (18) ist radial an eine isoliert angebrachte Halterung (22, 24) angeschlossen.



### **LEDIGLICH ZUR INFORMATION**

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

<b>AL</b>	Albanien	<b>ES</b>	Spanien	<b>LS</b>	Lesotho	<b>SI</b>	Slowenien
<b>AM</b>	Armenien	<b>FI</b>	Finnland	<b>LT</b>	Litauen	<b>SK</b>	Slowakei
<b>AT</b>	Österreich	<b>FR</b>	Frankreich	<b>LU</b>	Luxemburg	<b>SN</b>	Senegal
<b>AU</b>	Australien	<b>GA</b>	Gabun	<b>LV</b>	Lettland	<b>SZ</b>	Swasiland
<b>AZ</b>	Aserbaidshjan	<b>GB</b>	Vereinigtes Königreich	<b>MC</b>	Monaco	<b>TD</b>	Tschad
<b>BA</b>	Bosnien-Herzegowina	<b>GE</b>	Georgien	<b>MD</b>	Republik Moldau	<b>TG</b>	Togo
<b>BB</b>	Barbados	<b>GH</b>	Ghana	<b>MG</b>	Madagaskar	<b>TJ</b>	Tadschikistan
<b>BE</b>	Belgien	<b>GN</b>	Guinea	<b>MK</b>	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	<b>TM</b>	Turkmenistan
<b>BF</b>	Burkina Faso	<b>GR</b>	Griechenland	<b>ML</b>	Mali	<b>TR</b>	Türkei
<b>BG</b>	Bulgarien	<b>HU</b>	Ungarn	<b>MN</b>	Mongolei	<b>TT</b>	Trinidad und Tobago
<b>BJ</b>	Benin	<b>IE</b>	Irland	<b>MR</b>	Mauretanien	<b>UA</b>	Ukraine
<b>BR</b>	Brasilien	<b>IL</b>	Israel	<b>MW</b>	Malawi	<b>UG</b>	Uganda
<b>BY</b>	Belarus	<b>IS</b>	Island	<b>MX</b>	Mexiko	<b>US</b>	Vereinigte Staaten von Amerika
<b>CA</b>	Kanada	<b>IT</b>	Italien	<b>NE</b>	Niger	<b>UZ</b>	Usbekistan
<b>CF</b>	Zentralafrikanische Republik	<b>JP</b>	Japan	<b>NL</b>	Niederlande	<b>VN</b>	Vietnam
<b>CG</b>	Kongo	<b>KE</b>	Kenia	<b>NO</b>	Norwegen	<b>YU</b>	Jugoslawien
<b>CH</b>	Schweiz	<b>KG</b>	Kirgisistan	<b>NZ</b>	Neuseeland	<b>ZW</b>	Zimbabwe
<b>CI</b>	Côte d'Ivoire	<b>KP</b>	Demokratische Volksrepublik Korea	<b>PL</b>	Polen		
<b>CM</b>	Kamerun	<b>KR</b>	Republik Korea	<b>PT</b>	Portugal		
<b>CN</b>	China	<b>KZ</b>	Kasachstan	<b>RO</b>	Rumänien		
<b>CU</b>	Kuba	<b>LC</b>	St. Lucia	<b>RU</b>	Russische Föderation		
<b>CZ</b>	Tschechische Republik	<b>LI</b>	Liechtenstein	<b>SD</b>	Sudan		
<b>DE</b>	Deutschland	<b>LK</b>	Sri Lanka	<b>SE</b>	Schweden		
<b>DK</b>	Dänemark	<b>LR</b>	Liberia	<b>SG</b>	Singapur		
<b>EE</b>	Estland						

Verfahren und Vorrichtung zum Verkapseln von mikrobiellen, pflanzlichen und tierischen Zellen bzw. von biologischen und chemischen Substanzen

5

Die Erfindung betrifft ein Verfahren und eine Vorrichtung zum Verkapseln von mikrobiellen, pflanzlichen und tierischen Zellen bzw. von biologischen und chemischen Substanzen durch eine Düse in kleine, i. w. kugelförmige Teilchen.

10

Die Verkapselung von mikrobiellen, pflanzlichen und tierischen Zellen und von biologischen und chemischen Substanzen -- wie Katalysatoren -- ist vor allem in der Biotechnologie und der Medizin zur Immobilisierung von großer Bedeutung.

15

In der Medizin dient die Verkapselung zusätzlich zum Abschirmen vor dem Immunsystem. Durch die Immobilisierung ist es möglich, die Zellen oder den Katalysator im Prozeß zurückzuhalten und gleichzeitig das Produkt zu ernten. Dadurch sind ein verlängerter Nutzen und eine erhöhte Raum-

20

Zeit-Ausbeute möglich. Durch die Abschirmung der Zellen vor dem Immunsystem ist es möglich, einem Patienten körperfremde Zellen zu implantieren, die über längere Zeit einen gewünschten Stoff in den Körper des Patienten abgeben, ohne dass sie durch das Immunsystem des Patienten angegriffen

25

und zerstört werden.

30

Die Verkapselung von Zellen und Katalysatoren in Biopolymere -- wie Carrageenan oder Alginat -- und synthetische Polymere -- wie Polyacrylamid -- ist eine in Forschungslabors seit einigen Jahren angewandte Methode. In der Literatur werden dafür viele verschiedene Vorrichtungen beschrieben. Eine der effizientesten Methoden ist das Zerteilen ei-

nes Strahls durch die Überlagerung einer externen Schwingung auf die Immobilisierungsflüssigkeit. Die Flüssigkeit wird dadurch beim laminaren Ausströmen aus einer Düse in gleichgroße Fraktionen aufgeteilt. Mehrere Methoden zur Schwingungsübertragung werden genutzt oder beschrieben, z.B. Koppelung an einen Vibrator, Piezokristall, Schallwellen.

WO 96/28247 der Anmelderin zeigt ein kommerzielles Verpackungsgesetzgerät, bei dem die Schwingung durch eine starre Verbindung zu einem Vibrator übertragen wird. Diese Methode besitzt die Schwierigkeit, dass die Achse des Vibrators und die Achse zur Düse exakt ausgerichtet sein müssen, da sonst Störungen auftreten, welche die Homogenität der Kugelgröße massiv beeinträchtigen. Zudem ist der Vibrator teuer. Auch hat sich durch photographische Analysen und Beobachtungen unter Stroboskoplicht gezeigt, dass bei ordnungsgemäßem Betreiben der Vorrichtung bis etwa 100 mm nach der Düse eine monodisperse und einzelsträngige Kugelschleife sichtbar ist. Werden die Kugeln nach etwa 100 mm Fallstrecke im Härtebad aufgefangen und danach unter dem Mikroskop untersucht, so wurden sehr oft -- und dies nicht vorhersagbar -- Chargen ohne monodisperse Kugelschleife erhalten. In den Proben waren zumeist drei verschiedene Kugelpopulationen in unterschiedlichem Verhältnis; die erste besaß den erwarteten Kugeldurchmesser, die zweite ein doppeltes oder mehrfach größeres Volumen als erwartet, und die dritte hatte eine Form von zwei sich mehr oder weniger stark berührenden Einzelkugeln.

In Kenntnis dieses Standes der Technik hat sich der Erfinder das Ziel gesetzt, eine Vorrichtung und ein Verfahren der eingangs genannten Art zu optimieren.

5 Zur Lösung dieser Aufgabe führen die Lehren der unabhängigen Patentansprüche; die Unteransprüche geben günstige Weiterbildungen an. Zudem fallen in den Rahmen der Erfindung alle Kombinationen aus zumindest zwei der in der Beschreibung, der Zeichnung und/oder den Ansprüchen offenbarten  
10 Merkmale.

Nach dem erfindungsgemäßen Verfahren wird das Immobilisierungsgemisch, vor allem ein laminarer Flüssigkeitsstrahl, durch Überlagerung einer externen Schwingung in gleichgroße  
15 Teile getrennt. In der Nähe der Düse wird ein elektrisches Feld aufgebaut, so dass im Flüssigkeitsstrahl ein elektrischer Ladungsfluss entsteht, wodurch die entstehenden Tropfen eine elektrische Ladung aufweisen. Diese Aufladung muss so hoch sein, dass die Kugeln sich wegen der gleichartigen  
20 Ladung gegenseitig abstoßen, und sich die anfänglich einzelsträngig vorhandene Kugelschleife in viele Teilschleifen aufteilt. Dazu werden Spannungen vorzugsweise im Bereich von 200 bis 1600 V benötigt. Durch den Dispergierungseffekt fallen die Kugeln nicht mehr auf einem eng begrenzten Gebiet  
25 auf die Oberfläche des Härtungsbades, sondern sie werden weit zerstreut.

Dadurch ist es nun möglich, routinemäßig eine monodisperse Kugelschleife nicht nur in der Luft sondern auch im Härtungs-  
30 bad zu erzielen. Ebenso kann nun auch bei Immobilisierungsgemischen, die wegen ihrer chemischen und physikalischen

Eigenschaften kaum oder nur teilweise zertropft werden konnten, oft eine monodisperse Kugelschar erzielt werden.

5 Eine für dieses Verfahren vorgesehene Vorrichtung zeichnet sich u. a. dadurch aus, dass ein der Düse in Abstand und außerhalb der Düsenachse nachgeordnetes metallisches Gegenelement an eine Hochspannungsquelle angeschlossen ist. Dieses Gegenelement ist bevorzugt als Metallring ausgebildet, dessen Ringdurchbruch von der Düsenachse durchsetzt  
10 sein sollte. Zwischen Düse und Gegenelement bzw. Metallring findet sich ein elektrisches Feld, bevorzugt mit dem oben erwähnten Spannungsbereich.

15 Als günstig hat es sich auch erwiesen, beim Teilen des Immobilisierungsgemisches, durch Überlagerung einer externen Schwingung in gleich große Fraktionen diese Schwingungen auf das Immobilisierungsgemisch entweder innerhalb eines Pulsationsraumes oder über die in Pulsation versetzte Düse zu übertragen. Hierzu wird eine Vorrichtung angeboten, bei  
20 der eine der Düse vorgeordnete und das Immobilisierungsgemisch aufnehmende Pulsationskammer von einem Dauermagneten überlagert und dieser gegenüber einer elektrischen Spule angeordnet ist; eines der beiden Aggregate ist erfindungsgemäß innerhalb der Pulsationskammer vorgesehen oder auf  
25 einer Membrane, welche die Pulsationskammer überspannt, wobei das andere Aggregat von dem der Pulsationskammer zugeordneten durch einen Luftspalt getrennt ist.

Bei einer anderen Ausgestaltung der Vorrichtung sind Dauermagnet und elektrische Spule der Düse oder ihrer Aufhängung  
30 zugeordnet, so dass diese die Pulsation einzuleiten vermag.

Das Prinzip des Vibrators aus Magnet und mit Wechselstrom durchflossener Spule wird aus dem Vibrator herausgenommen, und ein Teil davon ist direkt der Pulsationskammer zugeordnet. Wenn durch die Spule Wechselstrom gesandt wird, wird  
5 diese abwechselnd positiv und negativ magnetisiert. Die Magnetwellen interagieren mit dem darunterliegenden Magneten und versetzen diesen in Schwingungen. Letztere werden fast widerstandslos auf die Immobilisierungsflüssigkeit übertragen.

10

Nach einem weiteren Merkmal der Erfindung erzeugen die mit Wechselstrom durchflossene Spule und der Dauermagnet Schwingungen im bevorzugten Bereich von 300 bis 4000 Hz.

15 So wird mit einfachen Mitteln eine Miniaturisierung der Schwingungsübertragung ermöglicht bei sehr geringem Material- und Energieaufwand. Die Kosten des Verfahrens und der Vorrichtung können um ein Mehrfaches gegenüber den bisher bekannten Vibrationsverfahren gesenkt werden. Als weiterer  
20 Vorteil ist anzusehen, dass die Ausrichtung von Magnet und Spule nicht auf 0,1 mm genau zentriert sein muss. Auch sind keine Achsen vorhanden, die exakt ausgerichtet werden müssen.

Weitere Vorteile, Merkmale und Einzelheiten der Erfindung ergeben sich aus der nachfolgenden Beschreibung bevorzugter Ausführungsbeispiele sowie anhand der Zeichnung; diese zeigt in

5

Fig. 1: eine Seitenansicht einer erfindungsgemäßen Vorrichtung;

10

Fig. 2: eine Schrägsicht auf eine andere erfindungsgemäße Vorrichtung;

Fig. 3: die Draufsicht auf die teilweise geschnittene Vorrichtung der Fig. 2;

15

Fig. 4: den Schnitt durch Fig. 3 nach deren Linie IV-IV.

20

In einer nur teilweise dargestellten Anlage für das sterile Verkapseln mikrobieller, pflanzlicher und tierischer Zellen ist in einem Reaktor 10 oberhalb eines Härtungsbades 12 sowie unterhalb einer an einem Reaktordeckel 14 hängenden Düse 16 und in Abstand a zu ihr ein Metallring 18 horizontal angebracht, dessen zentrischer Durchbruch 20 von der Düsenachse A durchsetzt ist.

25

Der Metallring 18 ist mittels eines radialen Halters 22 sowie eines anschließenden Rohres 24 in einem Isolierstutzen 26 im Reaktordeckel 14 befestigt sowie durch eine im Rohr

30



24 verlegte Leitung 28 an eine Hochspannungsquelle 30 angeschlossen.

Durch die Düse 16 wird ein Verkapselungsgemisch -- bestehend aus einer Immobilisierungsmatrix und Zellen oder Substanzen -- so gefördert, dass ein laminarer Freistrahle entsteht. Durch Überlagern einer Schwingung auf den Freistrahle zerfällt dieser in gleichgroße Tropfen K. Beim Eindringen der Flüssigkeit in ein zwischen dem Metallring 18 und der Düse 16 aufgebautes elektrisches Feld entsteht ein Ladungsfluss in Richtung der Düse 16, so dass die abgetrennten Tropfen K eine elektrische Ladung -- Influenzaufladung -- aufweisen. Durch diese gleichartige Ladung stoßen sich die Tropfen K ab.

Dieser Vorgang führt zu zwei Effekten. Zum einen werden die Tropfen K in axialer Richtung stabilisiert, d.h. sobald sich zwei Tropfen K durch unterschiedliche Fallgeschwindigkeit näher kommen, werden sie durch die Coulomb-Kräfte abgestoßen, und sie können sich nicht berühren. Zum anderen verstärken sich kleinste radiale Versetzungen, und es kommt zu einer Aufweitung der einzelsträngigen Kugelskette zu einem Kegel Q. Durch diesen Effekt wird ein Koagulieren von Tropfen K praktisch verhindert, und im Härtebad 12 entstehen vollkommen gleichgroße Partikel. Durch Erdung des Härtebades 12 bei 32 werden die Ladungen abgeführt.

In einer Ausgestaltung einer weiteren Anlage für das sterile Verkapseln mikrobieller, pflanzlicher und tierischer Zellen ist oberhalb des Härtebades 12 eine beispielsweise rechteckige Tragplatte 40 der Dicke b angeordnet mit in das Zentrum ihrer Oberfläche 42 eingeformter Vertiefung 44 der

Tiefe  $t$ ; letztere entspricht etwa einem Drittel der Plattendicke  $b$ .

Die Vertiefung 44 ist gemäß Fig. 4 von einer kreisförmigen  
5 Umfangswand 46 des Durchmessers  $d$  begrenzt, und vom Mittelpunkt ihres Bodens 48 geht eine Bohrung 50 aus. Diese mündet andernends in einer -- in die Unterfläche 41 der Tragplatte 40 eingebrachten -- napfartigen Einformung 52 des  
10 Durchmessers  $d_1$  (etwa ein Drittel  $d$ ), in welcher eine mit jener Bohrung 50 verbundene Düse 54 sitzt. Zudem führt in der Ebene des Bodens 48 ein Radialkanal 56 zu einem seitlichen Sackloch 58 für einen Anschlussstutzen 60.

Der Vertiefung 44 ist ein auf der Plattenoberfläche 42 --  
15 unter Zwischenschaltung einer Membrane 62 und einer Dichtung 64 -- festgelegter Druckring 66 zugeordnet; dieser ist -- wie auch die Dichtung 64 -- mit einem Innendurchbruch 38 des Durchmessers  $d$  ausgestattet und spannt die einen Scheibenmagneten 70 tragende Membrane 62 über der Vertiefung 44  
20 auf. Der Durchmesser  $e$  des Scheibenmagneten 70 ist etwas länger als der Durchmesser  $d_1$  der Einformung 52 für die Düse 54.

In Abstand zum Scheibenmagneten 70 hängt -- zu dessen Mittelachse  $M$  zentriert -- an einer Halterung 72 eine elektrische Spule 74. Scheibenmagnet 70 und die mit Wechselstrom durchflossene Spule 74 bilden einen Vibrator; wenn durch die Spule 74 Wechselstrom geleitet wird, wird sie abwechselnd positiv und negativ magnetisiert. Die Magnetwellen  
30 wirken auf den darunterliegenden Scheibenmagneten 70 und versetzen diesen mitsamt der Membrane 62 in Schwingungen.

In die eine Pulsationskammer bildende Vertiefung 44 ist durch den Radialkanal 56 eine Immobilisierungsflüssigkeit eingeleitet worden, auf welche die Schwingungen fast widerstandslos übertragen werden. Das Einbringen dieses Immobilisierungsgemisches erfolgt mittels eines mechanischen Vor-  
5 schubes oder durch Luftdruck in die Pulsationskammer oder Vertiefung 44; von dort wird das Immobilisierungsgemisch durch die Düse 54 gedrückt. Der dort entstehende Strahl E zerfällt kurz nach dem Austritt aus der Düse 54 entsprechend der Frequenz der überlagerten Schwingung in gleich-  
10 große Kugeln  $K_1$ . Bei etwa 700 Hz entstehen unter optimalen Bedingungen 700 der gleichgroßen Kugeln  $K_1$  je Sekunde, wobei die Homogenität der Kugelgestalt dank der reibungslosen Übertragung ausgezeichnet ist. Messungen haben gezeigt,  
15 dass die benötigte Leistung unter 0,2 W liegt.

Bei einer nicht dargestellten Ausführung ist der Dauermagnet 70 oder die Spule 74 unmittelbar an der Düse 54 vorgesehen und das jeweils andere Aggregat unter Bildung eines  
20 Luftspaltes zugeordnet.

PATENTANSPRÜCHE

1. Verfahren zum Verkapseln von mikrobiellen pflanzli-  
5 chen und tierischen Zellen bzw. von biologischen und  
chemischen Substanzen durch eine Düse in kleine, i.  
w. kugelförmige Teilchen durch Vibration eines  
Immobilisierungsgemisches,  
10 dadurch gekennzeichnet,  
  
dass das Immobilisierungsgemisch durch Überlagerung  
einer externen Schwingung in gleichgroße Fraktionen  
geteilt wird.  
15
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet,  
dass als Immobilisierungsgemisch ein laminarer Flüs-  
sigkeitsstrahl durch Überlagerung einer externen  
Schwingung in gleichgroße Fraktionen geteilt wird.  
20
3. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet,  
dass die Schwingung auf das Immobilisierungsgemisch  
innerhalb eines Pulsationsraumes übertragen wird.
- 25 4. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet,  
dass die Schwingungen auf das Immobilisierungsgemisch  
über die in Pulsation versetzte Düse übertragen wird.
5. Verfahren nach Anspruch 1, gekennzeichnet durch  
30 Schwingungen im Bereich von 300 bis 4000 Hz.

6. Verfahren nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass die kugelförmigen Teilchen in einem elektrischen Feld zwischen der Düse und einem Gegenelement elektrisch so stark aufgeladen werden, dass sie sich gegenseitig abstoßen.

7. Verfahren nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass die kugelförmigen Teilchen unterhalb des Gegenelements und oberhalb eines Härtungsbades unter Bildung eines Kegels auseinandergetrieben werden.

8. Verfahren nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass die elektrische Spannung zwischen der Düse und dem Gegenelement im Bereich von 200 bis 1600 V liegt.

9. Verfahren nach Anspruch 6 oder 7, dadurch gekennzeichnet, dass durch Veränderung der Lage und Geometrie des Gegenelements die Abstoßung der kugelförmigen Teilchen variiert wird.

10. Vorrichtung zum Verkapseln von mikrobiellen pflanzlichen und tierischen Zellen bzw. von biologischen und chemischen Substanzen durch eine Düse in kleine, i.w. kugelförmige Teilchen, insbesondere zur Durchführung des Verfahrens nach einem der voraufgehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß eine der Düse (16) in Abstand (a) und außerhalb der Düsenachse (A) nachgeordnetes metallisches Gegenelement (18) an eine Hochspannungsquelle (30) angeschlossen.

11. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 10 bis 12, gekennzeichnet durch ein elektrisches Feld zwischen

Düse (16) und Gegenelement (18) einer elektrischen Spannung im Bereich von 200 bis 1600 V.

12. Vorrichtung nach Anspruch 10 oder 11, dadurch gekennzeichnet, dass das Gegenelement als Metallring (18) ausgebildet und dessen Ringdurchbruch (20) von der Düsenachse (A) durchsetzt ist.
13. Vorrichtung nach Anspruch 10 oder 12, dadurch gekennzeichnet, dass der Metallring (18) radial an eine isoliert angebrachte Halterung (22, 24) angeschlossen ist.
14. Vorrichtung zum Verkapseln von mikrobiellen pflanzlichen und tierischen Zellen bzw. von biologischen und chemischen Substanzen durch eine Düse in kleine, i.w. kugelförmige Teilchen, insbesondere zur Durchführung des Verfahrens nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass eine der Düse (54) vorgeordnete und das Immobilisierungsgemisch aufnehmende Pulsationskammer (44) von einem Dauermagneten (70) überlagert und dieser gegenüber einer elektrischen Spule (74) angeordnet ist.
15. Vorrichtung nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, dass die Schwingung durch die mit Wechselstrom durchflossene Spule (74) und den Dauermagneten (70) erzeugbar ist, wobei sich eines der beiden Aggregate innerhalb der Pulsationskammer (44) befindet oder auf einer die Pulsationskammer überspannenden Membrane (62).

16. Vorrichtung zum Verkapseln von mikrobiellen pflanzlichen und tierischen Zellen bzw. von biologischen und chemischen Substanzen durch eine Düse in kleine, i.w. kugelförmige Teilchen, insbesondere zur Durchführung des Verfahrens nach einem der Ansprüche 1, 3 oder 4, dadurch gekennzeichnet, dass durch eine mit Wechselstrom durchflossene Spule (74) und einen Dauermagneten (70) eine Schwingung erzeugbar ist, wobei eines der beiden Aggregate auf der Düse (54) oder auf der Düsenaufhängung (40) befestigt ist.
17. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 13 bis 15, dadurch gekennzeichnet, dass die Spule (74) und der Dauermagnet (70) voneinander durch einen Luftspalt getrennt festgelegt sind.
18. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 15 bis 17, gekennzeichnet durch Schwingungen im Bereich von 300 bis 4000 Hz.

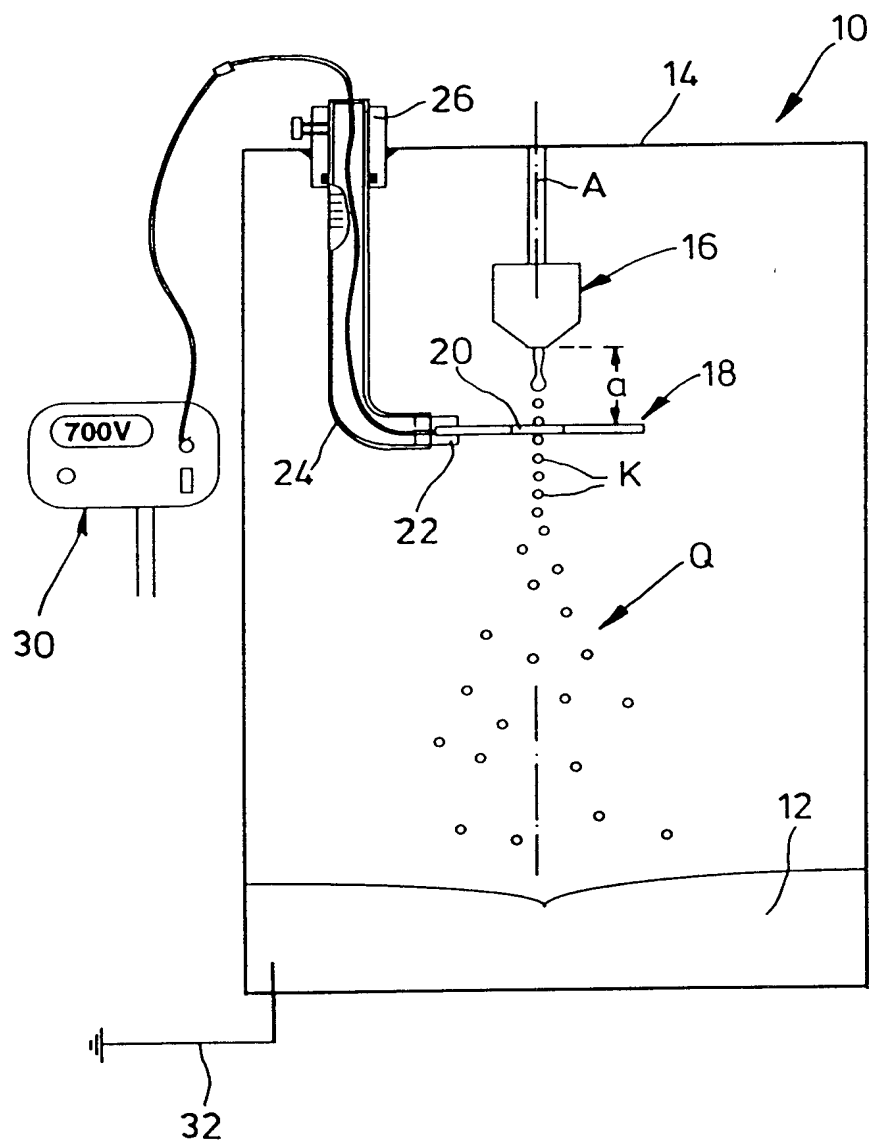
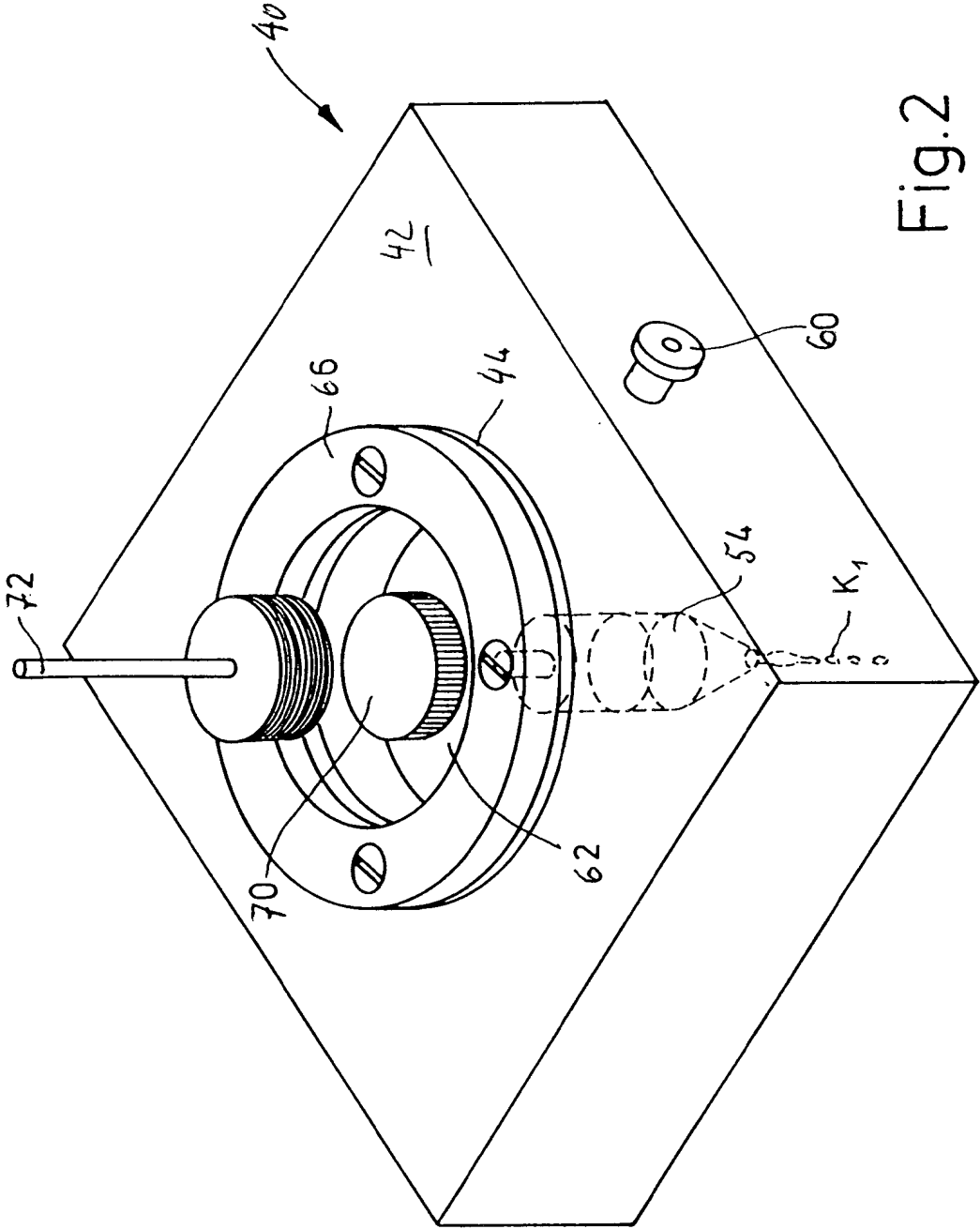


Fig.1





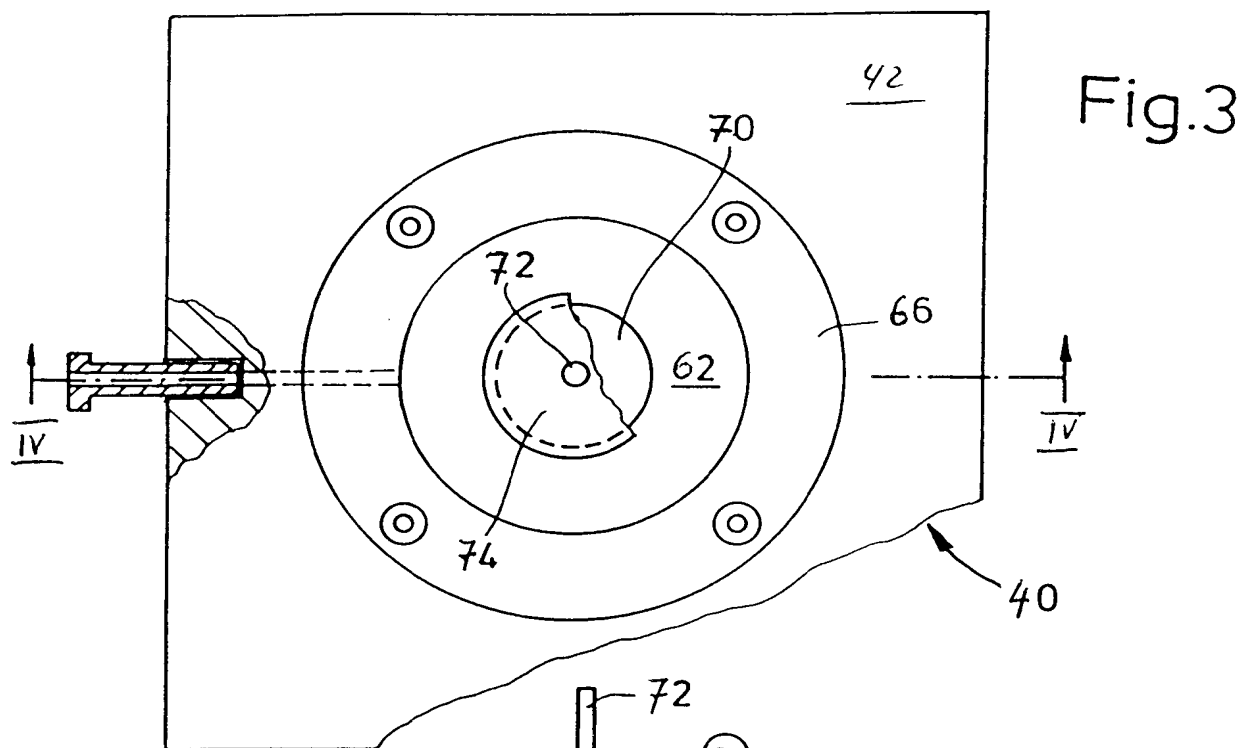


Fig.3

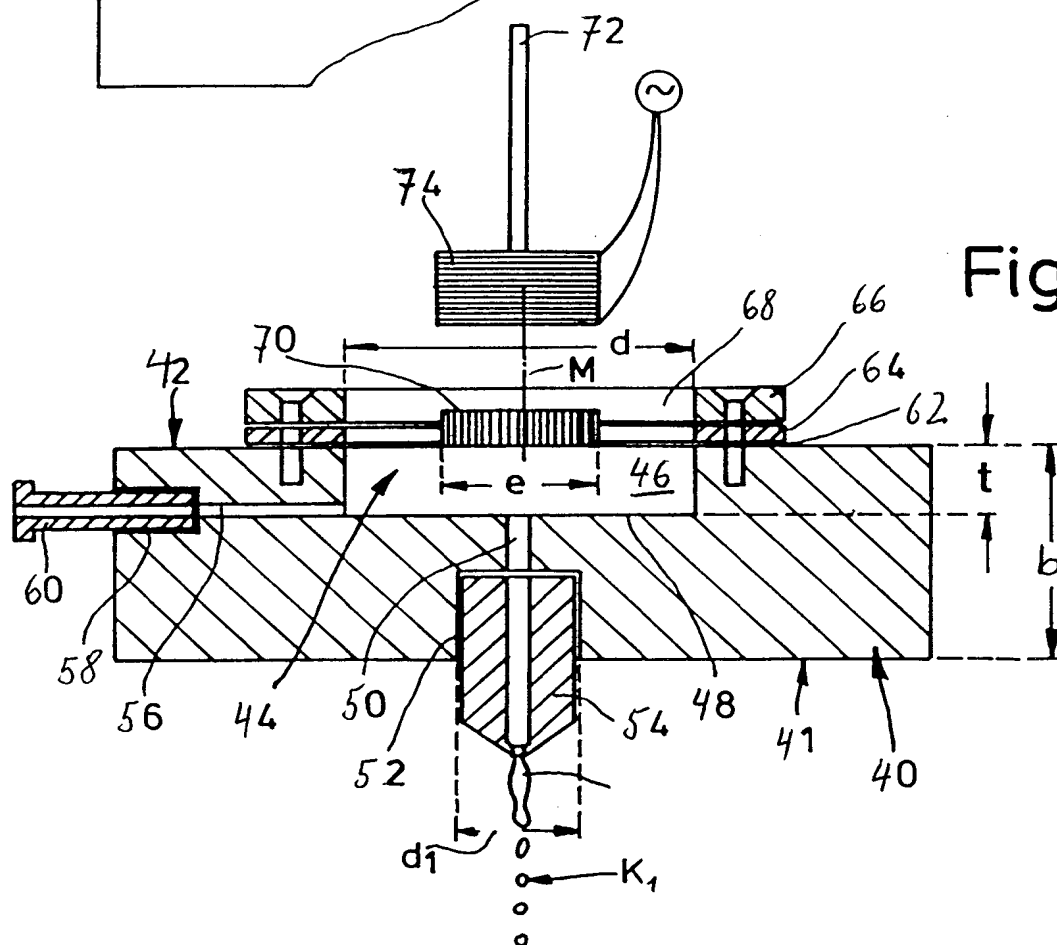


Fig.4

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter      nal Application No

PCT/EP 99/00162

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**  
IPC 6    B01J13/04    A61K9/16

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

**B. FIELDS SEARCHED**

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6    B01J    A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 96 28247 A (INOTECH AG ;HEINZEN CHRISTOPH (CH); KUHN OTHMAR (CH); PLUESS RAPHA) 19 September 1996 cited in the application see claims; figures ---	1-18
Y	DE 27 25 849 A (HOBEG HOCHTEMPERATURREAKTOR) 21 December 1978 see claims; figure ---	1-5
Y	US 4 981 625 A (RHIM WON-KYU ET AL) 1 January 1991 see claims; figures ---	6-13
	-/--	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

° Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

26 May 1999

Date of mailing of the international search report

04/06/1999

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Meertens, J

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 99/00162

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 018, no. 476 (C-1246), 6 September 1994 & JP 06 154587 A (FREUNT IND CO LTD), 3 June 1994 see abstract ---	14-18
A	US 4 302 166 A (FULWYLER MACK J ET AL) 24 November 1981 -----	

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 99/00162

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9628247 A	19-09-1996	NONE	
DE 2725849 A	21-12-1978	CH 629115 A	15-04-1982
US 4981625 A	01-01-1991	NONE	
US 4302166 A	24-11-1981	US 4162282 A	24-07-1979
		DE 2717097 A	10-11-1977
		FR 2348739 A	18-11-1977
		GB 1549464 A	08-08-1979
		JP 52129686 A	31-10-1977
		SE 7704551 A	23-10-1977

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 99/00162

**A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES**  
IPK 6 B01J13/04 A61K9/16

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)  
IPK 6 B01J A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie <sup>o</sup>	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	WO 96 28247 A (INOTECH AG ; HEINZEN CHRISTOPH (CH); KUHN OTHMAR (CH); PLUESS RAPHA) 19. September 1996 in der Anmeldung erwähnt siehe Ansprüche; Abbildungen ---	1-18
Y	DE 27 25 849 A (HOBEG HOCHTEMPERATURREAKTOR) 21. Dezember 1978 siehe Ansprüche; Abbildung ---	1-5
Y	US 4 981 625 A (RHIM WON-KYU ET AL) 1. Januar 1991 siehe Ansprüche; Abbildungen ---	6-13
	-/--	

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

<sup>o</sup> Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

26. Mai 1999

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

04/06/1999

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde  
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31.651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Meertens, J

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 99/00162

## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 018, no. 476 (C-1246), 6. September 1994 & JP 06 154587 A (FREUNT IND CO LTD), 3. Juni 1994 siehe Zusammenfassung ---	14-18
A	US 4 302 166 A (FULWYLER MACK J ET AL) 24. November 1981 -----	

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 99/00162

Im Recherchenbericht angeführtes Patentedokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
WO 9628247	A	19-09-1996	KEINE		
DE 2725849	A	21-12-1978	CH	629115 A	15-04-1982
US 4981625	A	01-01-1991	KEINE		
US 4302166	A	24-11-1981	US	4162282 A	24-07-1979
			DE	2717097 A	10-11-1977
			FR	2348739 A	18-11-1977
			GB	1549464 A	08-08-1979
			JP	52129686 A	31-10-1977
			SE	7704551 A	23-10-1977